Aus dem Robert-Koch-Institut Berlin
Leiter: Professor Dr. Georg Henneberg
Präsident des Bundesgesundheitsamtes

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG ÜBER DEN EINFLUSS INFRAROTBESTRAHLTEN MILIEUS AUF DIE PHAGOZYTOSEBEREITSCHAFT VON MAKROPHAGEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der ehem.
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hendrikje Borowski, geb. Zuschneid
aus
Kolberg/Mark

1970

Aus dem Robert Koch-Institut B E R L I N

Leiter: Professor Dr. Georg H e n n e b e r g
Präsident des Bundesgesundheitsamtes

Experimentelle Untersuchung über den Einfluß infrarotbestrahlten Milieus auf die Phagozytosebereitschaft von Makrophagen

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
ehem. Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hendrikje Borowski, geb.Zuschneid
aus
Kolberg/Mark

ehem. Dekan: Professor Dr. med. Herbert L a x

Referent: Professor Dr. med. Georg H e n n e b e r g

Korreferent: Professor Dr. med. Wilhelm M a ß h o f f

Gedruckt mit Genehmigung der ehem. Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 16.7.70

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Vorwort	3
Einleitung	4
I. Definition und Aufgaben der Phagozytose	4
II. Untersuchungen und Ergebnisse früherer Autoren	4
III. Fragestellung	6
Material und Methoden	7
Protokoll des Versuchs Nr. 1	11
Ergebnisse	23
Diskussion	32
Zusammenfassung	34
Literaturverzeichnis	35

Vorwort

Mit der Differenzierung biologischer Untersuchungsmethoden und der Verfeinerung ihrer Technik vermehrt sich die Zahl erkennbarer Faktoren, die in das Wechselspiel zwischen Umwelt und Organismus eingreifen.

So wird auch die Kenntnis von physikalischen Einflüssen auf die Entstehung und den Ablauf von Krankheiten ständig größer. Der Wirkung von Strahlen auf die Abwehrmechanismen des Körpers gilt in jüngerer Zeit vermehrtes Interesse.

In der vorliegenden Arbeit wird die Beeinflussung der Phagozytose durch Infrarotlichtbestrahlung des Milieus untersucht.

Einleitung

Phagozytose bedeutet das Vermögen von Zellen über 0,1 µ große Partikel aus ihrer Umgebung in sich aufzunehmen. Sie wurde zum ersten Mal 1883 von METCHNIKOFF (14) beobachtet.

Verschiedene Größen kennzeichnen die Phagozytose im Versuch:

Die Phagozytoserate gibt den Prozentanteil von Makrophagen an, die phagozytiert haben.

Der Phagozytoseindex nennt die durchschnittlich von einem Makrophagen aufgenommene Anzahl von Partikeln. Der Effekt eines Phagozytosesystems ist ein Wert, der aus dem prozentualen Anteil von phagozytierten zu nicht phagozytierten Partikeln resultiert.

Die Beeinflußbarkeit der Phagozytosebereitschaft durch äußere Faktoren ist besonders im Zusammenhang mit der immunologischen Reaktionsfähigkeit des Organismus von Interesse. Bekannt sind folgende Tatsachen:

Temperaturerhöhung von 18° C auf 37° C steigert die Phagozytose der Säugerleukozyten (MADSEN u. WULFF, 12). Opsonine fördern sie durch Umhüllung bei gewissen Bakterienarten, Globuline bei Kollodiumteilchen (FREI,5). Eine starke Erhöhung der Phagozytosebereitschaft von Leukozyten durch Aristolochiasäure (3,4-Methylen-dioxy-8-methoxy-10 nitrophenanthren-carbonsäure-1) beschreibt MÖSE (15).

Das pH-Optimum für die Phagozytose liegt bei 6,7-7,0 (FENN,6). Niedrigere pH-Werte, wie sie in Herden akuter Entzündungen gefunden werden, hemmen sie.

LEWIS (10) stellte fest, daß in Abhängigkeit von der Histaminkonzentration eine Steigerung oder eine Hemmung beobachtet werden kann.

FREI (5) beobachtete, daß Eiweißzerfallsprodukte wie Indol und Skatol die Phagozytose in negativem Sinne beeinflussen. Durch die Anwesenheit von Influenza- und Mumpsviren wird sie von polymorphkernigen Meerschweinchenleukozyten in vitro stark gehemmt (MERCHANT u. MORGAN, 13). DOWNEY u. PISANO (4) untersuchten das Verhalten polymorphkerniger Leukozyten in vitro und fanden bei Zusatz von Bacitracin, einem Antibiotikum von polypeptidartigem Charakter, eine Hemmung der Aufnahme von Polystyrene Latex oder Staphylococcus aureus, die durch Zugabe von Mg^{++}-und Ca^{++}-Ionen reversibel war. Sie scheint durch kompetetive Verdrängung hervorgerufen zu sein, und zwar auf dem Wege der Adsorbtion.

Die Wirkung elektromagnetischer Hochfrequenzfelder verschiedener Bereiche auf die phagozytäre und bakterizide Funktion des Blutes in vivo beschreibt SMUROVA (18). Die Bestrahlung von Rattenweibchen mit Kurz-, Ultrakurz- und Zentimeterwellen, 66 mal innerhalb von 2 1/2 Monaten, verursacht Phasenveränderungen der phagozytären und bakteriziden Funktion des Blutes, undzwar zunächst eine Aktivierung, der dann eine Inhibition folgt. Die schnellste Veränderung wird bei der Bestrahlung der Tiere mit Ultrakurzwellen beobachtet. Bei Zentimeterwellen ist die Phase der Aktivierung länger und die der Unterdrückung weniger ausgeprägt. Einen Monat nach Beendigung der Bestrahlung wird eine Wiederherstellung der phagozytischen Reaktion festgestellt. In der Aktivierung vermutet SMUROVA eine Kompensationsreaktion des Organismus auf die leukopenische Wirkung der Bestrahlung. HELLER (8) führte die Bestrahlung mit Infrarotlicht und Zentimeterwellen in verschiedenen Kombinationen an normalerweise nicht phagozytierenden Zellen (FL-Zellen) durch und beobachtete eine maximale Aufnahme von Tuschepartikeln bei der Kombination: NaCl-Tusche-Suspension mit Rotlicht bestrahlt; anschließend wurden mit dieser Suspension beimpfte Zellen mit Zen-

timeterwellen bestrahlt.

Ob infrarotlichtbestrahltes Milieu einen Einfluß auf Lebensäußerungen von Leukozyten in vitro habe, untersuchte LISCHKA (11). Neben einer Zunahme der Wanderungsgeschwindigkeit wies er eine Erhöhung der Phagozytose nach.

Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob Infrarotlicht bei Einwirkung auf Wasser in Abwesenheit der Zellen die Phagozytose beeinflußt. Das wäre von Bedeutung für die Frage, ob bestimmte Wellenlängen des elektromagnetischen Feldes den tierischen Organismus direkt oder indirekt in seinem Reaktionsvermögen beeinflussen können.

BORTELS u. Mitarb. (1) untersuchten das Gefrieren kleiner Wassermengen unter dem Einfluß kosmisch-solarer Strahlungskomponenten - als Indikator diente der Luftdruck - und fanden nach Luftdruckabfall Gefrier-Maxima und nach Luftdruckanstieg Gefrier-Minima. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß kosmisch-solare Einflüsse sich möglicherweise auf die Struktur des Wassers auswirken. Ist aber die Struktur des Mediums verändert, so wäre denkbar, daß auch physiologische Reaktionsabläufe von Zellen in diesem Milieu verändert ablaufen.

Ausgehend von diesen Überlegungen und den Erkenntnissen anderer Autoren, soll in dieser Arbeit untersucht werden, ob Makrophagen in infrarotbestrahltem Milieu ihre Phagozytosebereitschaft in positivem oder negativem Sinne verändern.

Material und Methoden

Die Phagozytose wurde bei Peritonealmakrophagen der Maus beobachtet, nachdem den Tieren vorher je nach Versuchsgruppen verschieden behandelte NaCl-Tusche-Suspension intraperitoneal injiziert worden war.

1. Strahlenquelle

Zur Bestrahlung diente der Osram-Siccatherm-Infrarotstrahler Typ SL/r 250 W (λ =1-2 μ), der bereits von CAROLI (3), LISCHKA (11) u. HELLER (8) verwandt wurde.

2. Medium

Als Medium diente physiologische Kochsalzlösung, die in einem mit Aluminiumfolie gegen Tageslichteinfall geschützten Erlenmeyerkolben aufbewahrt wurde. Durch diese Maßnahme sollte der Einfluß zusätzlicher elektromagnetischer Wellen möglichst gering gehalten werden. Die zunächst 24 Stunden lang bei -30° C gehaltene Lösung wurde im Brutschrank bei 37° C aufgetaut.

3. Herstellung der Suspension

Zu 100 ml dieser Kochsalzlösung wurde ein Tropfen Pelikan-Ausziehtusche-schwarz hinzugefügt. Für jede Versuchsgruppe (A-E) wurden 25 cm^3 NaCl-Tusche-Suspension benötigt, die in ebenfalls durch Aluminiumfolie geschützte Erlenmeyerkölbchen abgefüllt wurde.

4. Durchführung der Bestrahlung

Bestrahlt wurde aus 15 cm Entfernung während einer Dauer von 10 Min. Während der Bestrahlung befand sich die Suspension in Petrischälchen, die, um eine Temperaturerhöhung

durch die Rotlichtlampe auszuschalten, von Eiswürfeln umgeben waren. Das ganze Gefäß war durch einen Aluminiummantel gegen Tageslichtstrahlen abgeschirmt. Durch diese beiden Maßnahmen sollte die Einwirkung nicht gewünschter physikalischer Faktoren weitgehend vermindert werden.

5. Einfrieren der Suspension

Eingefroren wurden die Suspensionen eine Stunde lang bei - 70° C. Anschließend blieben sie bis zum Temperaturausgleich im Brutschrank von 37° C.

6. Zellen

Es wurden die Makrophagen von insgesamt 46 Mäusen (♂) ausgezählt. Die Tiere gehörten dem NMRI-Stamm an und kamen aus der Zucht des Robert Koch-Instituts. Sie hatten ein Durchschnittsgewicht von 20 g ± 2 g. Die Ernährung bestand vor und während des Versuchs aus Trockenfutter (Marke: Altromin) und Wasser.

7. Durchführung der Versuche

Die Versuche wurden immer zur gleichen Tageszeit durchgeführt, um die äußeren Faktoren weitgehend konstant zu halten. Durch diese Anordnung ließe sich möglicherweise ein Zusammenhang zwischen den Erscheinungen und Wetterveränderungen feststellen. Beginn der Bestrahlung 7^{30}h, Ende des Versuchs ca. 12 h.

Jedem Tier wurden 1,5 cm^3 der entsprechenden Suspension i.p. injiziert. Die Injektionsstelle wurde vorher mit Jod bestrichen. Es war darauf zu achten, daß dicht neben der linea alba senkrecht injiziert wurde, um kein Gefäß zu verletzen und um zu vermeiden, daß der Darm geritzt wurde. Nach 24 Stunden wurden die Mäuse mit

Äther getötet und auf Korkplatten gespannt. Das Peritoneum wurde freigelegt, anschließend eröffnet und ein Abklatschpräparat des Bauchhöhleninhalts abgenommen. Die Eröffnung des Bauchraums mußte sehr behutsam durchgeführt werden, da die zarten Bauchwandgefäße leicht einreißen.

8. Cytologie

Die Präparate wurden luftgetrocknet, 10 Min. in Methanol fixiert und 30 Min. nach Giemsa gefärbt. Mikroskopiert wurde mit Ölimmersion bei 800facher Vergrößerung. Ausgewertet wurden jeweils 20 Makrophagen pro Tier. Als Beleg wurden Fotos hergestellt (KB 17, Endvergrößerung ca. 2700fach).

9. Aufbau der Untersuchung (Vgl. auch Tab. 1)

Die Untersuchung bestand aus 5 Gruppen, die analog den Suspensionen mit A,B,C,D und E bezeichnet wurden. Jede Gruppe umfaßte 10 Tiere.

Für die Gruppe A blieb die Suspension unbehandelt und wurde bis zum Versuchsbeginn im Brutschrank bei 37°C aufbewahrt.

Für die Gruppe B wurde die unbestrahlte Suspension 1 Stunde bei -70°C eingefroren und anschließend im Brutschrank bis zum Temperaturausgleich aufbewahrt.

Die Suspension für die Gruppe C wurde bestrahlt, eingefroren und aufgetaut.

In Gruppe D (erste Hauptgruppe) wurde die Suspension bestrahlt und blieb danach im Brutschrank.

In Gruppe E (zweite Hauptgruppe) wurde sie bestrahlt,

1 Stunde bei -70° C gefroren, im Brutschrank aufgetaut und anschließend ein zweites Mal bestrahlt.

Bei Versuchsbeginn hatten alle Suspensionen eine Temperatur von 37° C.

Tab. 1: Behandlungsart der verschiedenen Suspensionen

Suspension	Rotlicht 1 x	-70° C/1 Std.	Rotlicht 2 x
A	-	-	-
B	-	+	-
C	+	+	-
D (1.Hauptgruppe)	+	-	-
E (2.Hauptgruppe)	+	+	+

10. Auswertung

Errechnet wurde der Phagozytoseindex, d.h. der Mittelwert der phagozytierten Tuschepartikel pro Makrophage. Die Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet mit der Varianzanalyse von WEBER (19).

Protokoll des Versuchs Nr. 1

(Der Ablauf der Versuche wurde auch genau nach der Zeit registriert)

28./29.2./1.3.1968

Versuchstiere:	Mäuse (♂)
Gewicht:	20 g ± 2 g

28.2.68

10^{00} h	Einfrieren von 200 cm^3 NaCl-Lösung bei -20° C. Der Erlenmeyerkolben ist mit Aluminiumfolie umhüllt.
16^{00}h	Die gefrorene Lösung wird im Brutschrank bei 37° C aufgetaut und dort über Nacht gelassen.

29.2.68

7^{20}h	Herstellung der NaCl-Tusche-Suspension (s.o.). Fünfmal 25 cm^3 dieser Suspension werden in durch Aluminiumfolie geschützte Erlenmeyerkölbchen A,B,C, D und E abgefüllt. Die Suspensionen A und D stehen zunächst im Brutschrank.
7^{30}h - 7^{40}h	Bestrahlung der Suspension E
7^{45}h - 7^{55}h	Bestrahlung der Suspension C
8^{00}h - 9^{00}h	Einfrieren der Suspensionen B,C und E bei -70° C.

9^{00}h - 9^{50}h	Auftauen der Suspensionen B,C und E im Brutschrank bei 37° C.
9^{55}h - 10^{05}h	Bestrahlung der Suspension D
10^{10} - 10^{20}h	Zweite Bestrahlung der Suspension E
11^{30}h	Jedem Tier wird 1,5 cm^3 der entsprechenden NaCl-Tusche-Suspension i.p. injiziert. 5 Gruppen mit je 5 Mäusen.
	Mäuse o.B.
1.3.1968	Mäuse o.B.
11^{30}h - 12^{00}h	Die Tiere werden mit Äther getötet, in Desinfektionslösung getaucht und auf Korkplatten gespannt.
	Eröffnung des Bauchraums, Abnahme des Abklatschpräparats. Die Präparate werden luftgetrocknet, 10 min in Methanol fixiert und nach Giemsa gefärbt, Auszählung.

Auszählung: Anzahl der Tuschepartikel/Makrophage

Ausgewertet wurden je 20 Makrophagen/Tier

Gruppe A

Tier	1	2	3	4	5
Makrophage					
1	3	2	42	3	8
2	14	2	12	2	35
3	9	2	27	1	21
4	12	17	6	1	29
5	8	4	13	3	27
6	6	16	26	1	41
7	7	7	22	5	44
8	7	15	45	1	13
9	13	7	32	1	27
10	8	3	19	4	17
11	11	13	6	18	36
12	1	1	8	2	25
13	1	2	23	8	33
14	13	3	4	1	15
15	25	7	16	4	13
16	4	5	12	38	16
17	4	8	26	3	30
18	29	3	26	24	29
19	11	1	9	8	37
20	7	9	31	7	35
Summe	193	127	405	135	531

Gruppe B

Tier	1	2	3	4	5
Makro-phage					
1	1	1	3	13	
2	27	5	5	4	
3	19	7	22	4	
4	27	20	25	3	
5	1	9	30	15	
6	3	14	20	8	
7	20	19	6	6	
8	5	4	25	5	
9	15	5	28	28	
10	30	7	5	4	
11	17	14	10	6	
12	17	22	9	18	
13	19	28	12	12	
14	16	1	27	5	
15	14	4	2	37	
16	3	2	1	18	
17	19	5	9	11	
18	13	20	5	4	
19	19	23	3	22	
20	5	8	4	26	
Summe	290	218	251	259	

Gruppe C

Tier	1	2	3	4	5
Makrophage					
1	8	31	24	16	5
2	9	14	7	2	2
3	11	26	7	5	3
4	6	6	38	20	4
5	1	22	29	34	2
6	8	13	28	21	3
7	8	21	33	43	12
8	4	21	7	5	9
9	5	20	18	8	15
10	9	17	5	5	4
11	5	8	24	17	1
12	2	3	3	20	3
13	11	29	22	8	13
14	7	25	20	21	2
15	9	13	40	9	34
16	2	4	9	13	1
17	5	20	1	5	3
18	9	17	13	15	4
19	3	31	14	19	2
20	6	15	20	14	5
Summe	128	356	362	300	127

Gruppe D 1. Hauptgruppe

Tier	1	2	3	4	5
Makro-phage					
1	5	48	17	57	
2	17	50	48	30	
3	39	64	35	29	
4	8	37	20	57	
5	41	100	24	48	
6	39	99	21	55	
7	15	75	20	16	
8	38	45	31	51	
9	35	76	57	45	
10	20	40	45	32	
11	46	54	23	34	
12	15	98	20	48	
13	19	25	20	58	
14	24	85	10	48	
15	2	36	23	71	
16	47	40	45	45	
17	30	80	27	12	
18	52	93	20	56	
19	30	89	22	57	
20	53	30	25	59	
Summe	575	1264	553	908	

Gruppe E

2. Hauptgruppe

Tier	1	2	3	4	5
Makrophage					
1	67	30	84	50	90
2	75	36	51	58	34
3	36	55	37	67	79
4	37	43	58	45	65
5	32	51	45	52	40
6	44	70	80	38	15
7	65	30	63	40	59
8	46	28	45	56	64
9	44	60	33	34	36
10	35	47	53	58	54
11	63	43	56	56	72
12	74	85	65	51	70
13	59	38	39	63	66
14	29	25	62	45	58
15	20	30	45	48	18
16	40	59	49	54	25
17	68	29	67	36	96
18	86	50	36	72	54
19	49	24	32	84	21
20	58	66	58	53	45
Summe	1027	899	1058	1060	1061

Graphische Darstellung der Auszählergebnisse

O = Versuch 1 + = Versuch 2

Varianzanalyse: (Versuch 1)

1. Berechnung des sogenannten Korrekturgliedes

$$\frac{(\sum xij)^2}{N} = \frac{12087^2}{23} = 6351981,2608$$

2. Berechnung von $\sum x^2ij$

$\sum x^2ij = 9449797$

3. Berechnung von SAQ (insgesamt)

$\sum x^2ij$-Korrekturglied

=9449797 - 6351981,2608 = 3097815,7392

4. Berechnung von SAQ (zwischen)

$$\sum_{i=1}^{k} \frac{-Si^2}{n_i} - \text{Korrekturglied}$$

= 29616435 : 5 = 5923287

11926324 : = 2981581

8604868-6351981,2608=2552886,7392

5. Aufstellung der Wertetabelle

Variabilität	SAQ	F	SAQ/F
insgesamt	3097815,7392	N-1 = 22	
zwischen	-2552886,7392	k-1 = 4	M_1 = 638221,6848
innerhalb	544929	N-k = 18	M_o = 30273,8333

6. Berechnung von M_1/M_o

$$\frac{638221,6848}{30273,8333} = 21,0816$$

7. Homogenitätsprüfung

$\alpha = 0,05$ F (4 18 0,05) = 2,93

$\alpha = 0,01$ F (4 18 0,01) = 4,58

Tab. 2: Wertetabelle zur Varianzanalyse

Behandlungsart	Anzahl der von je 20 Makrophagen aufgenommenen Tuschepartikel					$x_i = S_i$	n_i
Tier	1	2	3	4	5		
Gruppe A	193	127	405	135	531	1391	5
Gruppe B	290	218	251	259	--	1018	4
Gruppe C	128	356	362	300	127	1273	5
Gruppe D	575	1264	553	908	--	3300	4
Gruppe E	1027	899	1058	1060	1061	5105	5
Summe	2213	2864	2629	2662	1719	12087	
n	5	5	5	5	3		23

Tab. 3: Wertetabelle zur Varianzanalyse

Behandlungsart		Anzahl der von je 20 Makrophagen aufgenommenen Tuschepartikel					x^2_{ij}
	Tier	1	2	3	4	5	
Gruppe	A	37249	16129	164025	18225	281961	517589
	B	84100	47524	63001	67081	---	261706
	C	16384	126736	131044	90000	16129	380293
	D	330625	1597696	305809	824464	---	3058594
	E	1054729	808201	1119364	1123600	1125721	5231615
Summe		1523087	2596286	1783243	2123370	1423811	9449797

Ergebnisse

(s. Abbildungen)

Bei 46 von insgesamt 50 Tieren waren die Ergebnisse zu verwerten. Viermal zeigten sich Fehler im Abklatschpräparat, die durch Blutaustritte aus den sehr empfindlichen Gefäßen bedingt waren und die Versuchsergebnisse verfälschten.

Die Gruppe A (Kontrollen) bestand aus 10 Tieren. Ihnen wurde unbehandelte NaCl-Tusche-Suspension i.p. injiziert. Der durchschnittliche Phagozytoseindex betrug 13,4 (Abb. A).

Bei der Gruppe B (9 Tiere) wurde die unbestrahlte, aber gefrorene (1 Stunde -70° C) und anschließend aufgetaute Suspension verwandt. Der ermittelte Phagozytoseindex liegt bei 14,8 (Abb. B).

Die Suspension für die Gruppe C (10 Tiere) wurde 10 Min. infrarotbestrahlt und anschließend eingefroren. Hier wurde ein den vorangegangenen Gruppen ähnlicher Phagozytoseindex (15,1) errechnet (Abb. C).

Die Gruppen D und E, die die Hauptgruppen darstellen (die Infrarotlichtbestrahlung stellte in beiden Gruppen die letzte Behandlungsweise der Suspension dar), zeigten folgende Ergebnisse:

Gruppe D (9 Tiere), erste Hauptgruppe, hatte einen durchschnittlichen Phagozytoseindex von 37,2. Im Gegensatz zu den Gruppen B, C und E war die Suspension hier ausschließlich bestrahlt worden (Abb. D).

Der Phagozytoseindex für die Gruppe E (8 Tiere), zweite Hauptgruppe, betrug 50,0. In diesem Fall war die Suspension bestrahlt, eingefroren, aufgetaut und ein zweites Mal bestrahlt worden (Abb. E).

Vergleicht man die verschiedenen Gruppen, so fällt auf, daß der durchschnittliche Phagozytoseindex der Gruppen A, B und C quantitativ gleich zu bewerten ist (ca. 14). Eine Veränderung der Phagozytose gegenüber A (Kontrollen) konnte demnach durch Einfrieren weder einer unbestrahlten noch einer bestrahlten Suspension erreicht werden.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zeigen die Werte der Gruppen D und E einen deutlichen Zuwachs des Phagozytoseindex. Die Infrarotlichtbestrahlung unmittelbar vor dem Versuch scheint bei beiden Gruppen der entscheidende Faktor zu sein.

Bildet man die Mittelwerte über alle Werte eines Bestrahlungstyps, ergibt sich folgende Tabelle:

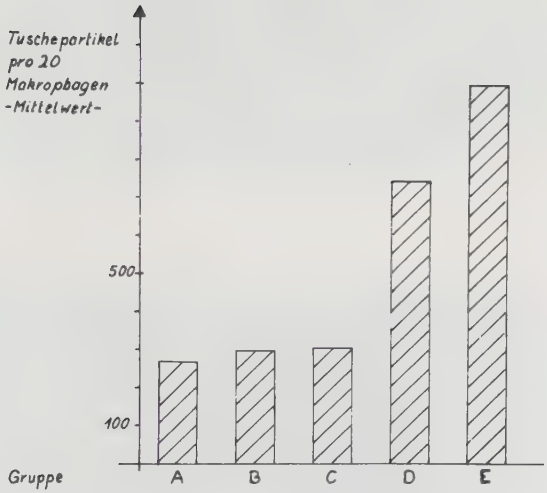
Tab. 4: Durchschnittlicher Phagozytoseindex aller Werte eines Bestrahlungstyps, gesichert durch die Varianzanalyse (WEBER,19).

	A	B	C	D	E
Durchschnittlicher Phagozytoseindex	13,4	14,8	15,1	37,2	50,0

Um zu prüfen, ob die Unterschiede zwischen den Gruppen nicht nur zufällig auftraten, wurde die Varianzanalyse nach WEBER (19) durchgeführt. Es zeigte sich, daß der berechnete F-Wert wesentlich größer war als die beiden Tafelwerte bei vorgegebener Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0{,}05$ und $\alpha = 0{,}01$. Das bedeutet, daß die Variabilität zwischen den Gruppen wesentlich größer ist als diejenige innerhalb der

Gruppen. Sie kann nicht durch Zufallseinflüsse erklärt werden.

Aus diesem Ergebnis kann man schließen, daß die Unterschiede, die die Makrophagen hinsichtlich der Phagozytosebereitschaft aufweisen, auf einen echten Einfluß der untersuchten Faktoren zurückzuführen sind.



Graphische Darstellung der Ergebnisse (gesichert durch die Varianzanalyse)

A: Suspension blieb unbehandelt
B: " unbestrahlt und gefroren
C: " bestrahlt und gefroren
D: " bestrahlt
E: " bestrahlt, gefroren und bestrahlt

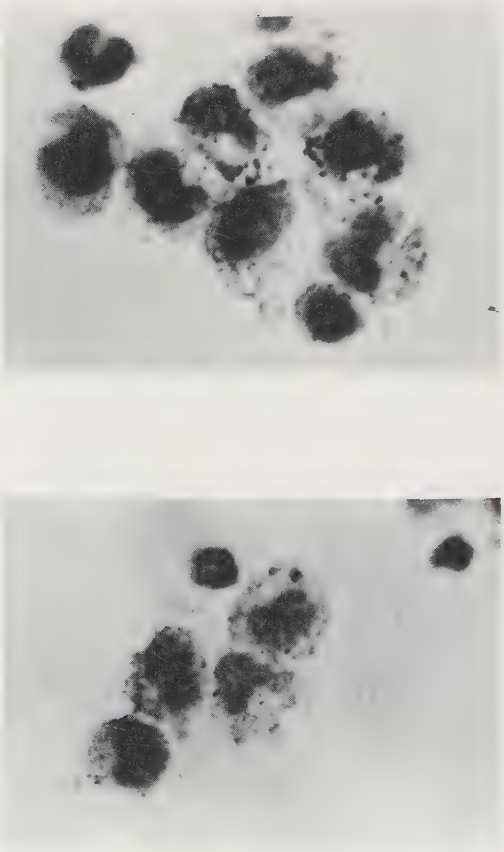


Abb. A: Makrophagen der Gruppe A
Durchschnittlicher Phagozytoseindex: 13,4

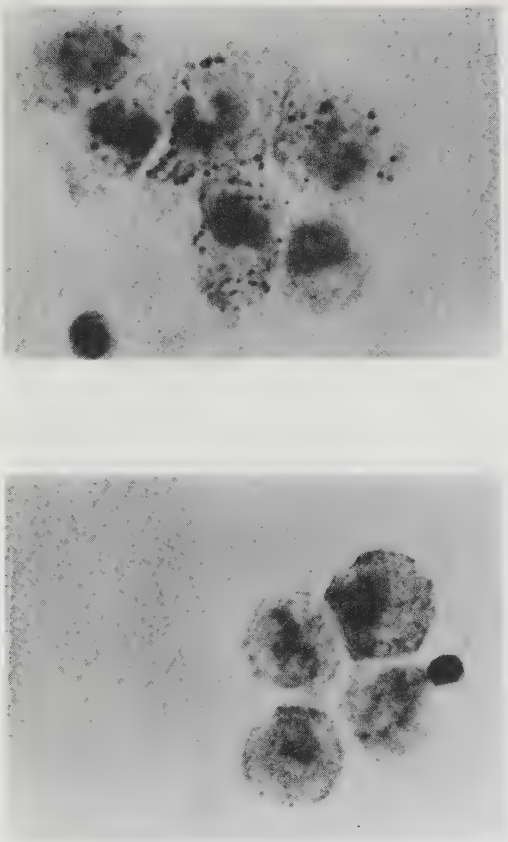


Abb. B.: Makrophagen der Gruppe B
Durchschnittlicher Phagozytoseindex: 14,8

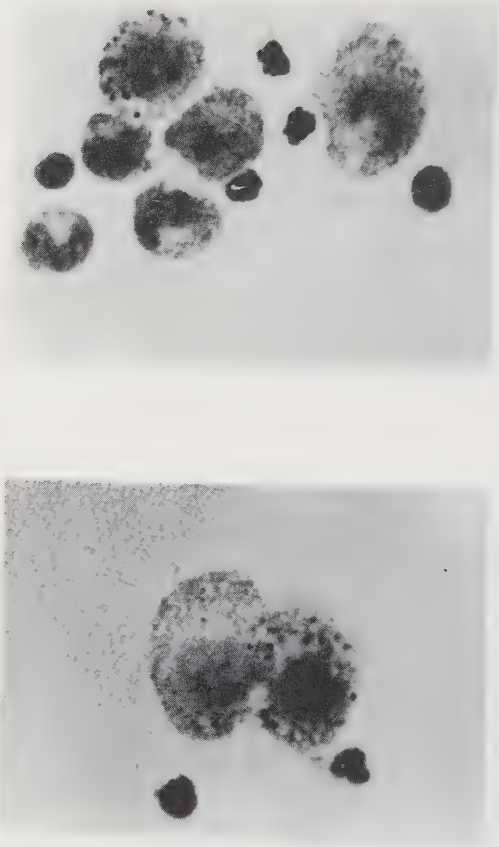


Abb. C: Makrophagen der Gruppe C
Durchschnittlicher Phagozytoseindex: 15,1

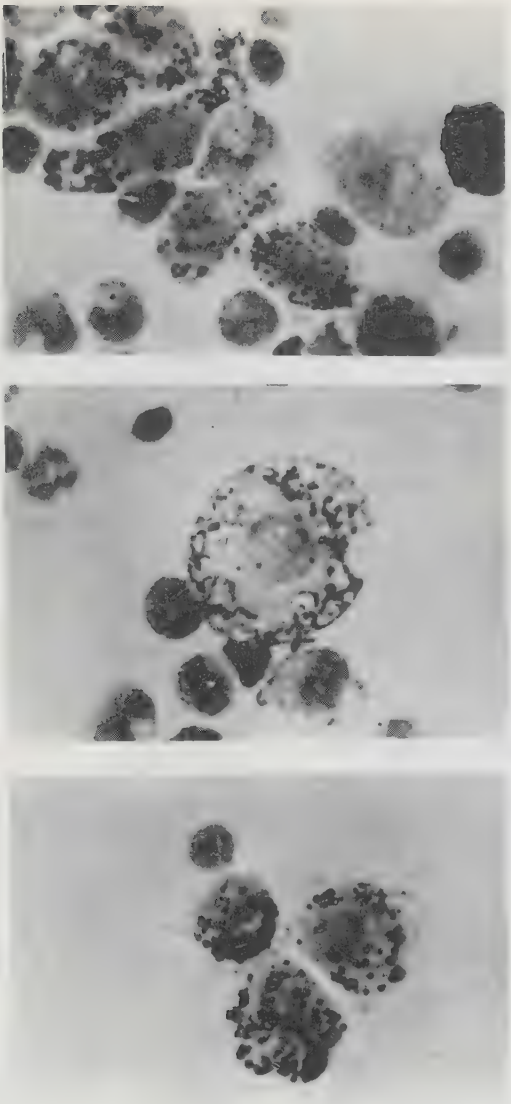
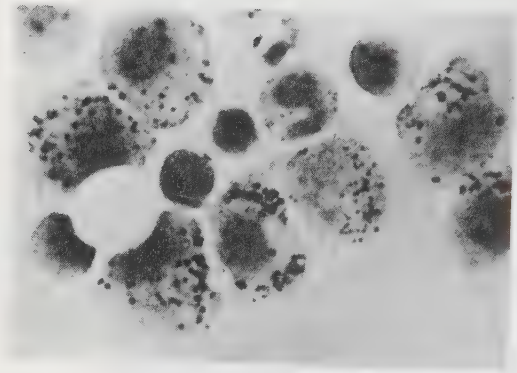


Abb. D: Makrophagen der Gruppe D
Durchschnittlicher Phagozytoseindex: 37,2



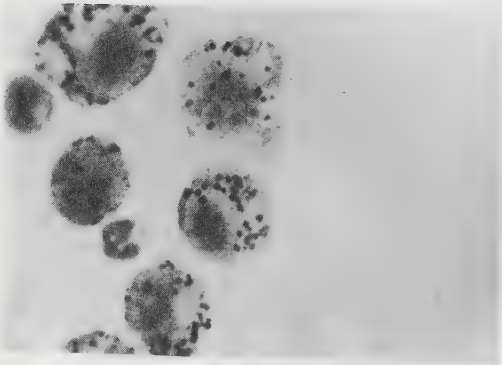


Abb. E: Makrophagen der Gruppe E
Durchschnittlicher Phagozytoseindex: 50,0

Diskussion

Makrophagen des Peritonealraums von Mäusen zeigten nach i.p. Injektion von mit Infrarot bestrahlter Tuschesuspension, verglichen zum Kontrollversuch, eine gesteigerte Phagozytose der Tuschepartikel. Damit wurden die Ergebnisse von LISCHKA (11) bestätigt, der die nach Infrarotbestrahlung der Suspensionsflüssigkeit gesteigerte Aufnahmebereitschaft phagozytierender Leukozyten Staphylokokken gegenüber beobachtete.

In den vorliegenden Versuchen waren inerte Teilchen, das heißt Tusche, den phagozytierenden Zellen angeboten, um ein möglichst einfaches System zu konstruieren und komplizierende Faktoren möglichst auszuschalten oder die Zahl derselben zu verringern. Ein Vorteil wurde auch darin gesehen, daß bei Verwendung von Tusche spezifische Färbungen der Makrophagen nicht notwendig wurden. Die Tusche war leicht in den Zellen zu erkennen, ihre intrazelluläre Lagerung war gut zu beurteilen.

Eine Besonderheit in der Versuchsanordnung liegt darin, daß die die Phagozytose fördernde Wirkung, die nach Injektion von infrarotbestrahlter Tuschesuspension zu beobachten war, aufgehoben wurde, wenn die bestrahlte Flüssigkeit vor der Injektion vorübergehend eingefroren war. Eine solche Flüssigkeit gewann ihre Eigenschaft, die Phagozytose zu verstärken, wieder, wenn sie erneut dem Infrarotlicht ausgesetzt wurde. Damit ist ein Hinweis gegeben, daß durch die Infrarotbestrahlung wahrscheinlich die Struktur des Wassers verändert wird. Wenn das Gefrieren als Kristallisationsprozeß angesehen wird, hebt dieser die Strukturveränderungen nach Bestrahlung wieder auf.

PICCARDI (16) spricht von einer infrarotbedingten Verzerrung der Wasserstruktur, eine Vorstellung, die den hier beschriebenen Beobachtungen entspräche. Über den Mechanismus der Auswirkung der Infrarotbestrahlung auf das Wasser und über den Mechanismus der Auswirkung dieser Suspension auf die Phagozytosebereitschaft der Makrophagen kann nichts ausgesagt werden.

Makrophagen haben eine Funktion im Rahmen der Abwehrvorgänge des Organismus. Auf Grund der Untersuchungen von HAFF, SCHRIVER und STEWART (7) ist in dieser Hinsicht ein Beispiel gegeben. Sie beobachteten, daß im Nasalsekret influenzainfizierter Frettchen die Anzahl der Makrophagen und Leukozyten stark erhöht war. Theoretisch ist es denkbar, daß diese Zellen durch äußere Reize, auch durch Reize atmosphärischer Strahlungen, in ihren Funktionen gehemmt oder gefördert werden. Entsprechende Versuche müßten Aufschluß darüber geben. Die in vivo Versuche mit Makrophagen im Peritonealraum geben eine Grundlage für solche Experimente.

Zusammenfassung

Untersucht wurde der Einfluß infrarotbestrahlten Wassers auf die Phagozytosebereitschaft von Makrophagen. Als Versuchstiere dienten Mäuse (♂). Den Tieren wurde eine NaCl-Tusche-Suspension i.p. injiziert, die vorher unterschiedlich behandelt wurde. Nach 24 Stunden wurde ein Abklatschpräparat des Bauchhöhleninhalts abgenommen. Errechnet wurde der Phagozytoseindex. Die Versuche wurden in 5 Gruppen durchgeführt. Von insgesamt 50 Tieren konnten die Ergebnisse bei 46 Tieren verwertet werden.

Die Untersuchungen führten zu folgenden Befunden:

Bei Makrophagen in infrarotbestrahltem Milieu konnte ein zum Kontrollversuch stark erhöhter Phagozytoseindex errechnet werden.

Deutliche Parallelität hingegen ergab sich zwischen dem Kontrollversuch, dem Komplex unbestrahlt-gefroren und dem Komplex bestrahlt-gefroren.

Dabei ergaben sich weitere neue Gesichtspunkte:

Die durch infrarotlichtbestrahltes Milieu in positivem Sinne stimulierte Phagozytosebereitschaft von Makrophagen unterscheidet sich nicht mehr von der der Kontrolltiere, wenn die bestrahlte Suspension eingefroren wird.

Literaturverzeichnis

1. BORTELS, H., D. MASSFELLER u. E. WEDLER: Das Gefrieren kleiner Wassermengen als solarmeteoro-biologische Modellreaktion.
Die Naturwissenschaften 8,181,1965

2. BRÜCHER, H., M. GRÄBER u. E. KIETZMANN: Untersuchungen zur Genese der Makrophagen in der Blutzellkultur.
Klin. Wochenschrift 3,161,1969

3. CAROLI zit. nach LISCHKA.

4. DOWNEY, R.J., J.C. PISANO: Effect of Bacitracin on in vitro Phagocytosis.
Nature, 210,654-56,1966

5. FREI,W.: Allgemeine Pathophysiologie der Infektionskrankheiten.
Paul Parey, Berlin-Hamburg

6. FENN zit. bei FREI.

7. HAFF, R.F., P.W. SCHRIVER u. R.C.STEWART: Pathogenesis of Influenca in ferrets. Nasal manifestations of Disease.
The British Journal of Exp. Pathology, 47,435-44,1966

8. HELLER, S.: Einflüsse der Bestrahlung mit zwei verschiedenen Wellenlängen auf die Pinozytose von FL-Kulturen.
Persönliche Mitteilung

9. KARNOWSKY, M.L.: Metabolic basis of phagocytic activity.
Physiological Reviews 42,143,1962

10. LEWIS zit. bei FREI.

11. LISCHKA, K.-D.: Verhalten der Leukocyten im infrarotbestrahlten Milieu.
Inaugural-Dissertation 1967

12. MADSEN u. WULFF zit. bei FREI.

13. MERCHANT, D.J. and H.R. MORGAN: Inhibition of the phagocytic action of leucocytes by mumps and influenca viruses.
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.74,651,1950

14. METCHNIKOFF, E.: Elie Metchnicoff (1845-1916) advocate of phagocytosis.
JAMA 203,139-41,1968

15. MÖSE, J.R.: Weitere Untersuchungen über die Wirkung der Aristolochiasäure.
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 16,118-122, 1966

16. PICCARDI, G.: The Problem of the Relationship between Spacial and Terrestrial Chemical Tests.
Atti della Fondazione Giorgio Ronchi
XVI Nr. 2, 1961, 109-121

17. de RUDDER, B.: Grundriß einer Meteorbiologie des Menschen.
Springer-Verlag 1952
Berlin-Heidelberg-New New York

18. SMURROVA, E.J.: Changes in the phagocytic and bactericidal function of the blood under the action of electromagnetic fields of radio-frequency.
Gig. Sanit 32,37-41,1967

19. WEBER, E.: Grundriß der Biologischen Statistik.
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1964

Herrn Professor Dr. Georg Henneberg danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die wertvolle Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit.

Fräulein Helga Jordanski danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Lebenslauf

1. Februar 1944	als Tochter des Professors Dr. med. Karl Zuschneid und der Architektin Dipl.-Ing. Irina Zuschneid, geb. Kaatz, in Kolberg/Mark geboren.
1950	Nach der Rückkehr meines Vaters aus russischer Kriegsgefangenschaft Übersiedlung nach Berlin.
3. März 1963	Abitur am Französischen Gymnasium in Berlin.
20. März 1964	Naturwissenschaftliche Vorprüfung an der Freien Universität Berlin.
7. Oktober 1965	Ärztliche Vorprüfung an der Freien Universität Berlin. Anschließend klinisches Studium in Innsbruck, Kiel und Berlin.
25. Januar 1968	Eheschließung mit Rainer Borowski, Medizinalassistent, geb. 1.12.1942 in Danzig.
21. März 1969	Ärztliche Prüfung an der Freien Universität Berlin.
6. Juni 1969	Geburt unseres Sohnes Boris Gregor Borowski in Berlin.

21. Oktober 1969 — Immatrikulation an der Philosophischen Fakultät der Freien Universität Berlin, Fachrichtung Soziologie.

Mein Berufsziel ist, nach Beendigung des Soziologiestudiums, auf dem Gebiet der Gesundheitsfürsorge tätig zu sein.